

## II. 对精子发生过程影响的电镜观察

党连凯 鲁崎唔

(中国科学院生物物理所,北京)

张素茗

(中国科学院高能物理所,北京)

随着微波在工业、国防、广播通讯、医疗、家庭生活等方面广泛的应用,它已成为人们生活的环境因素,所以微波的效应、允许剂量等研究受到重视;医学家生物学家还努力探索利用微波的热效应作为治疗肿瘤辅助手段<sup>[1~3]</sup>,和作为雄性避孕的新方法<sup>[3~5]</sup>。

本实验通过电镜观察了用 2450MHz, 功率密度为 30—32 毫瓦/平方厘米微波照射小白鼠睾丸, 研究精子发生过程中细胞的损伤和恢复规律, 探讨微波作为雄性避孕方法的可能性, 并为研究允许剂量和非热效应提供资料。

### 材料和方法

**微波源** X<sub>B</sub>-7 标准信号发生器, 频率 2450MHz, 连续波, 功率 3—5 毫瓦, 通过 FW<sub>1</sub> 微波功率放大器(阳极电压 1.5kV), 放大 800—1000 倍, 输出 15 瓦左右的连续波, 再经喇叭形天线使成球面形辐射。

**实验动物和方法** 昆明小白鼠, 三月龄, 健康雄性, 共 12 只(4 只对照, 8 只受照)。每次取 2 只, 固定于有机玻璃盒内, 肖射睾丸及以下部位; 距天线发射口 6 厘米, 单位面积功率为 30—32 毫瓦/平方厘米。照射后睾丸升温 2℃ 左右 (36℃—38℃)。每天照射 1.5 小时, 连续 10 天。停照后 1、7、14、30 天, 各取 2 只小白鼠睾丸精小管用 2.5% 戊二醛固定 2 小时, 经磷酸缓冲液冲洗; 再固定于 1% 银酸 1 小时, 磷酸缓冲液冲洗三次。

1. 冷冻蚀刻复型膜的制备 从缓冲液取出样品, 放入 30% 甘油生理盐水, 然后投入液氮冷冻, 再装入 BAF-400D 真空冷冻蚀刻仪, 在 -120℃, 优于  $1 \times 10^{-6}$  mbar 高真空条件下断裂, 蚀刻, 制成铂-碳复型膜。

2. 超薄切片样品制备 样品经脱水, 包埋, 切片厚 500 埃左右, 铀、铅双染色。观察电镜为: JEM-100CX, JEM-100S, JEM-7 型。

### 观察结果

**正常组** 精小管由 5—8 层生精细胞组成, 排列规则有序。精原细胞为圆形或椭圆形, 靠近基底膜; 精母细胞大而圆, 核圆形可见联会; 精子细胞处于不同变态期(高基期、头帽期、顶体期、成熟期), 成熟精子位于

管腔中央; 支持细胞核形不规则, 有切迹, 胞质多包裹精细胞。

**停照后 1 天** 精小管由 5—8 层细胞组成, 排列规则。精原细胞未见变化; 少数精母细胞核膜肿胀, 模糊, 或出现断裂(图 1a)。冷冻蚀刻复型膜可观察到细胞膜断裂面不平, 破碎, 细胞质内出现少量空泡, 内质网轻度扩张; 精子细胞顶体扩张, 变形, 断裂面可见隆起结节(图 1d), 成熟精子未见损伤。

**停照后 7 天** 精小管层次不减少, 细胞排列紊乱。精原细胞未见损伤。细胞分裂相有所增加。精母细胞核膜间隙扩大, 断裂面凸凹不平或破碎, 核质溶解坏死, 内质网肿胀, 线粒体肿胀、空化、膜结构模糊。精子细胞顶体明显扩张、变形, 断裂面破溃, 细胞核内出现空洞, 有些精子细胞停止发育, 脱落到管腔中。成熟精子正常。支持细胞未见明显改变。

**停照后 14 天** 精小管层次减少, 为 3—4 层, 排列紊乱。精原细胞未见损伤, 细胞分裂相增加。精母细胞胞膜破碎, 核膜模糊, 断裂或外突(图 1b), 核染色质分布不均, 胞质内有空泡或脂滴团, 线粒体肿胀, 空化, 内质网扩张。精子细胞顶体扩张, 变形, 顶体与核膜之间出现空洞, 核内有空洞, 线粒体空化, 排列不规则; 精母细胞和精子细胞脱落到管腔, 成熟精子较少, 有畸形。支持细胞未见改变。

**停照后 30 天** 细胞 3—4 层, 精小管管腔缩小, 细胞排列紊乱。精原细胞分裂相较多; 精母细胞表面不平或破碎状(图 1c), 细胞质内有较多空泡, 内质网扩张, 线粒体肿胀, 核膜皱缩, 破溃; 精子细胞顶体膨胀, 畸形, 顶体物质穿入细胞核, 精子尾畸形, 轴丝弯曲, 管腔中多为发育不成熟精子, 脱落下来。

### 讨 论

一、在本实验条件下, 微波照射后睾丸生精过程明显破坏, 如细胞层次减少, 精小管萎缩, 精母细胞的质膜、核膜变模糊, 及精子细胞顶体膨胀, 畸形或死亡等。对微波以精母细胞最为敏感、破坏严重, 其次为发育变态中的精子细胞, 而精原细胞和支持细胞未见明显改变, 成熟精子具有抗性。

微波停照后 1 天就可以观察到生精细胞的损伤，停照后 7 天加重，停照后 14 天、30 天最严重。

上述结果与邹蕤宾等报道<sup>[4]</sup>用 2450MHz 微波照射结果基本一致。但邹蕤宾等认为 42℃ 以上可产生避孕效果，低于 39℃ 无效。Kase 等<sup>[5]</sup>指出转化的细胞对 43℃ 最敏感，低于 40℃ 不会引起破坏。本实验照射后升至 38℃ 也引起了睾丸生精过程的破坏。

二、细胞的膜结构对微波照射敏感。Baranski 证明微波形成的电磁场可以改变膜的离子分布，影响它的电性质和功能<sup>[6]</sup>。McKee 指出微波影响生物膜的结构和功能<sup>[7]</sup>。我们通过电镜也观察到生殖细胞的膜结构破坏明显，而且出现较早，表现为以下几种类型：1. 膜膜和核膜的双分子层不牢固，照射后膜结构模糊不清，冷冻蚀刻可见膜蛋白移动，断裂面破碎；2. 膜表面外突或内陷；3. 核膜双层断裂，核质与胞质沟通；4. 核

膜间隙和内质网肿胀、扩张、线粒体破坏、空化。

## 参 考 文 献

- [1] 吕友勇：《生理科学进展》，15 卷(1 期)，62—67，1984。
- [2] James, R. Okeson: *IEEE Transaction on Biomedical Engineering*, Vol. BME-31 No 1, 1984.
- [3] Fahim, M. S.: *Fertility & Sterility*, 28: 823—831, 1977.
- [4] 邹蕤宾等：《全国部分省市物理抗生育会议资料》，96—99, 1981。
- [5] 李维信等：《解剖学报》，14 卷，3 期，322—325, 1983。
- [6] 万启智等：《全国部分省市物理抗生育会议资料》，58—65, 1981
- [7] Kase, et al: *Nature*, 225—228, 1975.
- [8] Baranski, S., et al: *Biological Effects of Microwave* (ed. by Strodbury Dowden Hutchinson and Ross), 1976.
- [9] McKee, B. L: *Proc. IEEE*, 68: 84, 1980.

## III. 对角膜细胞染色体的影响

陈采琴 樊 蓉

(中国科学院生物物理研究所, 北京) (中国科学院高能物理研究所, 北京)

随着微波技术在工业、国防、医疗、通讯等部门的广泛应用和空间电磁强度的不断增加，微波辐射已成为危害人们身体健康的一种因素，联合国人类环境会议已把微波列入必须控制的造成公害的主要污染物之一。

关于首先微波导致人眼损害的研究，最早是由 Hirsch 在 1952 年报道：一名雷达技术工人，在 1500—3000MHz 频段，功率密度 100 毫瓦/厘米<sup>2</sup>下工作一年后，发现二侧性白内障。此后，不少研究者表明，大强度暴露导致人眼晶状体混浊，患白内障发生。1978 年 Ya(O, K.Y. S<sup>[1]</sup>) 曾报道微波辐射对中国田鼠角膜上皮细胞染色体的影响，而国内至今未见有这方面的报道。我们用微波照射小白鼠角膜细胞，并就微波辐射对其染色体的影响作初步探讨。

### 一、材料与方法

1. 微波照射 X<sub>B-L</sub>，标准信号发生器作微波辐射源，工作频率 2450 兆周/秒，经 F<sub>W-L</sub> 微波功率放大器，输出功率为 15 瓦左右的连续波，再经天线喇叭使微波功率成球面辐射状。

将小鼠四肢固定在有机玻璃板上，此板直接放在渗碳的泡沫塑料构成的微波吸波材料上，以防止微波反射。照射时除了将小鼠头部暴露外，其余部分均屏蔽。照射源距离小鼠眼部 1.5—4 厘米。眼球接受的

功率密度分别为 86 毫瓦/厘米<sup>2</sup>—68 毫瓦/厘米<sup>2</sup>。

2. 动物分组 实验材料选用 64 只成年的雄性昆明种小鼠，随机分为 5 组，详见表 1。各组均在照射后 24 小时取材制片。

表 1 微波辐射小白鼠角膜细胞染色体畸变率

实验组别	照射剂量 (时间)	动物数	观察细胞数	染色体畸变数	染色体畸变率(%)
对照		16	300	0	0
组 I	68 毫瓦/厘米 <sup>2</sup> (10 分钟)	12	300	4	1.3±0.66
组 II	68 毫瓦/厘米 <sup>2</sup> (20 分钟)	11(12)*	300	3	1.0±0.58
组 III	86 毫瓦/厘米 <sup>2</sup> (10 分钟)	11(12)*	300	7	2.3±0.88
组 IV	86 毫瓦/厘米 <sup>2</sup> (20 分钟)	6(12)*	300	6	2.0±0.82

\* 本组原有 12 只小鼠，照射中途时有死亡，括号外数字为存活的小鼠数，\*\* P < 0.05。

3. 实验方法 操作程序参照樊蓉等人的工作<sup>[2]</sup>。

### 二、结果与讨论

1. 染色体畸变率观察 从表 1 可见，微波辐射后

党连凯等:《微波对小白鼠精子发生过程影响的电镜观察》一文的图 1

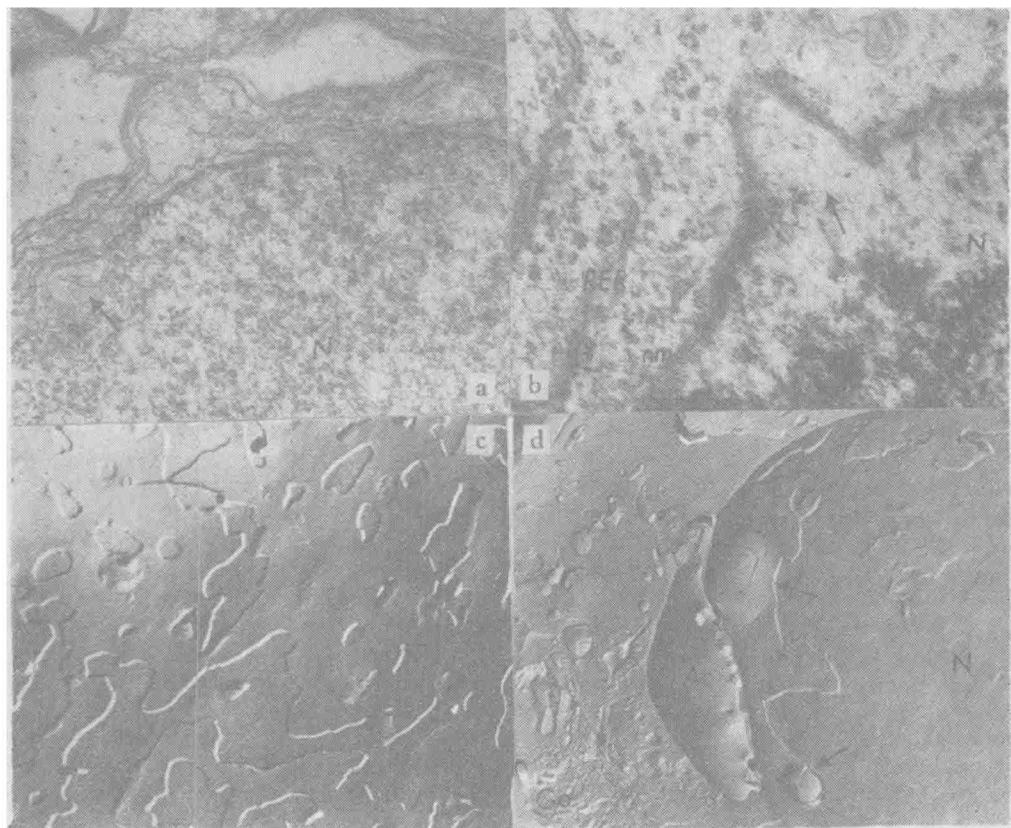


图 1

a. 停照后 1 天, 精母细胞核膜扩张断裂(↑)内质网扩张 ( $\times 20000$ )

b. 停照后 14 天, 精母细胞核膜向外突出(↑) ( $\times 20000$ )

c. 停照后 30 天, 精母细胞细胞膜断裂而破溃 ( $\times 15000$ )

d. 停照后 1 天精子细胞(头帽期)核膜破溃, 向外突出(↑) ( $\times 10000$ )

N 细胞核 nm 核膜 Ac 颗体 Go 高尔基复合体 RER 粗面内质网